



Osaamista ja oivallusta

tulevaisuuden tekemiseen

Set up and selection of qRT-PCR kits for the diagnosis of human respiratory syncytial virus and influenza viruses

Jenni Dudek

Johdanto

- Metropolia Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö
- Bioanalytiikan koulutusohjelma

Työn tavoitteet ja tarkoitus

- Pystyttää kaupallisia RT-PCR kyttejä influenssa- ja RS-viruksille
- Testata kittien herkkyyttä, kantakattavuutta ja mahdollisia ristireaktioita
- Arvioida kittien käytettävyyttä ja hintoja

Referenssi
menetelmä
SIBA®:lle

Työn eteneminen

RNA:n eristäminen

- ATCC- näytteet
- NATtrol Flu Verification Panel
- Kliiniset näytteet



Kvantitointi

- ATCC näytteet
- Aliquot 100 000 cp/μL
- Laimennossarjat jokaiseen aioon



RT-PCR

- Testattiin 9 kittiä
- Primerdesign, altona Diagnostics, R-Biopharm, Diagenode, Quidel



Tulokset

- Kuusi kittiä valikoitui opinnäytetyöhön

Käytetyt kitit

- Genesig® Influenza B Virus Standard kit (Primerdesign)
- Genesig® Respiratory Syncytial Virus (all species) Standard Kit (Primerdesign)
- RealStar® S&T Influenza RT-PCR Kit 3.0 (altona Diagnostics)
- RealStar® RSV RT-PCR Kit 1.0 (altona Diagnostics)
- RIDA®GENE Flu&RSV (R-Biopharm)
- R-Dia

Kittien ominaisuuksia

One-Step menetelmiä

TaqMan-kemiaan perustuvia

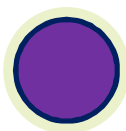
Kaupallisia kittejä

Poisjääneet:

- Genesig influenza A subtype H1
- Lyra Influenza A+B Assay (Quidel)
- Lyra RSV + hMPV Assay (Quidel)

Tulokset

Kittien herkkyys



Laimennossarja

10 000 cp/μL

1000 cp/μL

100 cp/μL

10 cp/μL

1 cp/μL

Kaikilla muilla
kiteillä sama
herkkyys,
paitsi
RIDA®GENE
Flu&RSV

Tulokset

Kittien kantakattavuus ja ristireaktiot

- Testattiin NATtrol Flu Verification Panelilla
- 16 erilaista bakteeri- ja viruspartikkelia
- Influenssa- kiteillä erityisesti influenssavirusten alatyypit
- RSV kiteillä ristireaktiot muiden hengitystiepatogeenien kanssa

Influenza A
H3N2
Wisconsin

- RIDA®GENE
Flu&RSV

Influenza A
H1N1
Brisbane

- RealStar®
Influenza S&T
RT-PCR Kit 3.0

Influenza A
H1N1 09 Ny

- RIDA®GENE
Flu&RSV
- RealStar®
Influenza S&T
RT-PCR Kit 3.0
- R-DiaFlu

Influenza B
Florida

- RIDA®GENE
Flu&RSV

NATtrol Flu	RealStar					R-DiaFlu		RidaGene			Genesig
	IAV	IAV H1N1	IBV	RSV A	RSV B	IAV	IBV	IAV	IBV	RSV	RSV
Rhinovirus Type 1A				-	-						-
M. Pneumoniae				-	-						-
N.Meningitidis				-	-						-
RSV A				-	+						+
RSV B				+	-						+
Echovirus Type 30				-	-						-
Parainfluenza 1				-	-						-
Influenza A H1N1 New Cal				-	-			+	-	-	-
Influenza A H3N2 Wisconsin	+	-	-			+	-	-	+	-	
Influenza A H1N1 09 Canada	+	+	-			+	-	+	-	-	
Influenza A H1N1 Brisbane	+	-	-			+	-	+	-	-	
Influenza A H3N2 Brisbane	+	-	-			+	-	+	-	-	
Influenza A H1N1 09 Ny	-	+	+			+	+	+	-	(+)	
Influenza B Florida				-	-			+	+	+	-
Influenza B Malaysia	-	-	+			-	+	-	+	-	
Coxsackievirus Type A9				-	-						-

Pohdinta

Tulokset

- Hyvä herkkyys
- Kittien spesifisyys kohtalainen
- Erityisesti RIDA®GENE Flu&RSV kitin ristireaktiot

Haasteet

- Kittien toimitusvaikeudet
- Valmistajien vastausten viivästyminen
- Jokaista kittiä ehdittiin käyttää vain kerran

Jatkotutkimukset

- Sample prep- näytteet
- Kittien lisättestaus



Osaamista ja oivallusta

tulevaisuuden tekemiseen

Lämpimät kiitokset Finntesting yhdistyksen hallitukselle,
Metropolia Ammattikorkeakoululle, Lehtori Hannele
Pihlajalle, Orion Diagnostica OY:lle ja
Laboratorioasiantuntija Jenna Flinckille!

Jenni Dudek
dudek.jenni@gmail.com